

Aus der Universitäts-Frauenklinik Mainz
Abteilung für Experimentelle Endokrinologie
(Direktor: Prof. Dr. Friedberg)

**Untersuchungen zum Verhalten des
Dehydroepiandrosterons und seiner Konjugate
auf die Glukose-6-Phosphat Dehydrogenase-Akti-
vität in Leber- und Ovargewebe**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von
Viola-Dagmar Hinzpeter
aus Bad Reinerz/Schlesien

Mainz 1972

Aus der Universitäts-Frauenklinik Mainz
Abteilung für Experimentelle Endokrinologie
(Direktor: Prof. Dr. Friedberg)

Untersuchungen zum Verhalten des
Dehydroepiandrosterons und seiner
Konjugate auf die Glukose-6-Phos-
phat Dehydrogenase-Aktivität in
Leber- und Ovargewebe

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von
Viola-Dagmar Hinzpeter
aus Bad Reinerz / Schlesien

Mainz 1972

Dekan: Prof. Dr. K. H. Bäßler

Referent: Prof. Dr. G. W. Oertel

Korreferent: Prof. Dr. V. Friedberg



In Dankbarkeit
meinen Eltern



Digitized by the Internet Archive
in 2026

INHALTSÜBERSICHT

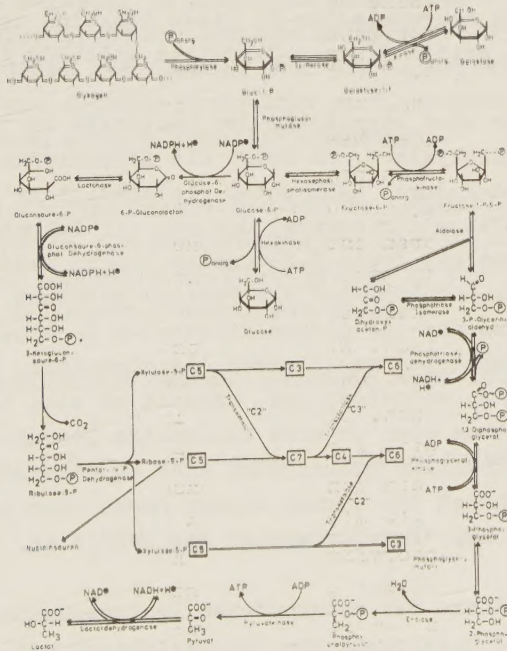
1. Einleitung
2. Methodik
3. Ergebnisse
4. Diskussion
5. Literaturnachweis

EINLEITUNG

1931 wurde von WARBURG und Mitarbeitern Glucose-6-phosphat Dehydrogenase (G-6-PDH) aus untergäriger Hefe isoliert (13). Sie reinigten das Enzym und wiesen nach, daß es in Gegenwart von Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat (NADP) als Coenzym Glucose-6-Phosphat zum Gluconolacton-Phosphat oxydiert. NADP nimmt bei dieser Reaktion Wasserstoff auf. Dieses war eine der ersten bekannten Reaktionen, an der ein Pyridin-Coenzym beteiligt war. Das Coenzym erhielt damals die Bezeichnung "Zwischenferment", die heute nur noch historische Bedeutung hat. Die G-6-PDH ist in fast allen tierischen Geweben und Mikroorganismen nachzuweisen (23, 37, 38, 39), besonders reichlich in Blutzellen (15, 16, 17, 18, 36), im Fettgewebe (32), in der laktierenden Mamma (9, 10), in geringerem Umfange in Leber, Pankreas, Nieren, Lungen, Gehirn, Magenschleimhaut, Hoden und Ovar (19). Auch einige menschliche Tumoren enthalten hohe Aktivitäten dieses Enzyms (4, 7, 11, 32). Nur in Spuren findet man G-6-PDH dagegen in der Skelett- und Herzmuskulatur. Im Blutserum fehlt sie praktisch. Eine Übersicht über den Glucoseabbau soll die Stellung besagten Enzyms und seine Bedeutung hervorheben. Die Glucose im Blut muß dabei zunächst in die Zelle aufgenommen werden, was im aktiven Transport gegen ein Konzentrationsgefälle vonstatten geht. Dort wird sie mit Hilfe des Enzyms Hexokinase in 6-Stellung phosphoryliert, wobei ATP als Phosphatdonator fungiert. Es entsteht somit die stoffwechselaktive Form der Glucose, das G-6-P. Die intrazelluläre Speicherform der Glucose, das Glykogen, kann hingegen ohne ATP-Ver-

brauch durch Phosphorylase in G-1-P und durch Phosphatverschiebung weiter in G-6-P überführt werden. Als aktive Form der Glucose kann G-6-P auf zwei Wegen einem Abbau unterliegen: einmal im Pentose-Phosphat Zyklus, zum anderen durch die Glykolyse.

Unter Glykolyse versteht man den Abbau der Kohlenhydrate im Organismus nach dem "EMBDEN-MEYERHOF-Schema", auch "EMBDEN-MEYERHOF-PARNAS-Schema" genannt. (Abb. I, 14)



EMBDEN-MEYERHOF-Schema und Pentosephosphat-Cyklus

Hier unterscheidet man praktisch drei Phasen:

1. Umwandlung der Hexose in zwei Mol Triosephosphat,
2. Dehydrierung des Triosephosphats mit NAD zu Phosphoglyzerinsäure,
3. Umwandlung der Brenztraubensäure durch aeroben oder anaeroben Abbau.

Der zweite Abbauweg des G-6-P wird als "Pentosecyklus" oder "Pentosephosphatcyklus" nach dem WARBURG-DICKENS-HORECKER-Schema bezeichnet. Er verläuft aerob und setzt sich aus folgenden Teilschritten zusammen:

Die G-6-PDH oxydiert in Gegenwart von NADP als Coenzym das G-6-P zum Gluconolacton-P. Diese Reaktion nennt man übrigens die dritte Glucose-Oxydation WARBURGS (14).

Gluconolacton wird mittels der Lactonase zu Gluconsäure-6-P hydrolysiert. Es folgt die Dehydrierung des Gluconsäure-6-P durch NADP unter gleichzeitiger Abspaltung von CO_2 . 3-Keto-Gluconsäure, die man als Zwischenprodukt vermutet, kann als freie β -Ketosäure leicht decarboxyliert werden, wobei Ribulose-5-P als Pentose entsteht. Diese steht wiederum mit der Aldose Ribose-5-P in einem durch Ribose-5-P-Isomerase regulierten Gleichgewicht. Wie aus dem Gesagten zu entnehmen ist, handelt es sich bei diesem oxydativen Abbau eher um eine zweimalige Dehydrierung, wobei dem NADP-NADPH Redoxsystem eine bedeutende Rolle zufällt. Es hängt das Ausmaß dieser Reaktionen also hauptsächlich von der "Regenerierung" des NADP's ab.

Der weitere Abbau der entstandenen Pentosephosphate geschieht unter Mitwirkung von Transketolasen und Transaldolasen über einen komplizierten Mechanismus und führt zu Hexosen, Fructose-6-P und Glucose-6-P.

Die Bilanz zeigt, daß aus drei Pentose-Molekülen zwei Hexosen und eine Triose entstehen. Die Hexose kann wieder in die direkte Glucoseoxydation eingehen. Die Triose, die im Pentosephosphat-Cyklus gebildet wird, reagiert einmal nach dem EMBDEN-MEYERHOF-Schema weiter oder unterliegt der Kondensation mit einem weiteren Molekül Triose zu einem Molekül Hexose, wobei ein Fructose-Diphosphat anfällt. Dieses kann dann wieder in den Zyklus eingeschleust werden. Diese Vorgänge entsprechen somit einem vollständigen Abbau der Hexose zu CO_2 und Wasser.

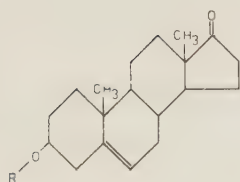
Ist auch der soeben geschilderte Abbauweg der Glucose nicht der Hauptweg, so kommt ihm doch wegen der Produktion vieler Zwischenprodukt und des NADPH's große Bedeutung zu, denn beim Abbau der Glucose über die Glykolyse, wo der Hauptteil der Glucose verbraucht wird, entsteht nur NADH. Für Synthesen wird jedoch NADPH benötigt.

Wie man sieht, spielt die G-6-PDH im komplizierten Reaktionsschema als Bio-Katalysator eine wichtige Rolle, die aus der zentralen Stellung gleich zu Beginn des Pentosephosphatcyklus hervorgeht (14).

G-6-PDH katalysiert demnach folgende Reaktionen:



Das von der Nebennierenrinde sezernierte DHEA tritt einmal als freie Verbindung auf, bevorzugt aber als Sulfokonjugat (2, Abb. III).



3β-Hydroxy-5-androsten-17-on

Freies DHEA:

R= -H

Sulfat:

R= -SO₃⁻

Sulfatid

R= -CH₂-O-CO-R₁
 |
 CH-O-CO-R₂
 |
 -SO₃-CH₂

Glucuronosid:

R= -CH₂-(CHOH)₄-COO⁻

Dihydroepiandrosteron und seine Konjugate

Die Produktion von DHEA bzw. seinem Sulfokonjugat hängt dabei einmal von ACTH ab, jedoch auch in gewissem Maße von Gonadotropinen (8).

Erste Hinweise auf DHEA lieferten BUTENANDT und TSCHERNING, die 1934 dieses Steroid aus menschlichem Urin isolierten (5). BAULIEU konnte 1959 DHEA-Sulfat im hyperplastischen Nebennierenrindengewebe nachweisen (3). 1960 gelang es dann LEWITZ und 1961 ROBERTS, den indirekten Metabolismus dieses Konjugats nachzuweisen, der mit der Hydrolyse des Sulfats beginnt.

Dabei kann das freigesetzte DHEA entweder resulfuryliert oder zu andren Steroiden metabolisiert werden.

Die Exkretionsgeschwindigkeit des freien DHEA lag wesentlich über der des DHEA-Sulfats, was auf eine längere Halbwertszeit des Konjugats hindeutet und seinen Grund in einer Bindung an Plasmaproteine haben könnte. Auf der anderen Seite zeigten OERTEL und Mitarbeiter, daß das im Plasma enthaltene sulfokonjugierte DHEA nicht mit dem Sulfat identisch ist. Vielmehr handelt es sich dabei wohl um einen Diglyceridschwefelsäureester, der in Analogie zu Phosphatiden als Sulfatid bezeichnet wurde. Ergab doch die Analyse des aus Plasma isolierten lipophilen und solvolysierbaren Konjugates eine Zusammensetzung aus ungefähr einem Mol Steroid, einem Mol Sulfat, einem Mol Glycerin und zwei Mol Fettsäure. 1965 wurden derartige Konjugate von OERTEL aus menschlichem NNR-Gewebe, Plasma und Liquor isoliert.

Versuche an Meerschweinchen zeigten, daß die Steroid-Sulfatide wahrscheinlich aus Steroid-Sulfaten entstehen. Als Ort der Biogenese kommt wohl vor allem das Lebergewebe in Frage. Die solvolysierbaren, lipophilen Steroid-Sulfatide dienen letztlich vielleicht als Depot- oder Transportform für das im Organismus benötigte DHEA. So übertrifft auch die Halbwertszeit des Sulfatids die des freien Steroids und des Sulfats um ein Vielfaches (24). Daß nun letztere Verbindung in den meisten Fällen in Analysen gefunden wurde, dürfte wohl der relativen Unbeständigkeit des Sulfatids zuzuschreiben sein, die in der Hydrolyse des Sulfatids zum Sulfat beruht (25).

Den direkten Metabolismus von sulfokonjugiertem DHEA, d.h. ohne vorherige Hydrolyse des Konjugats, wies 1963 BAULIEU (1) nach. MARKS und BANKS (20) sowie OERTEL und Mitarbeiter (26) konnten demonstrieren, daß freies DHEA ein ausgezeichneter nicht-kompetitiver Hemmstoff der G-6-PDH im menschlichen Erythrocyten ist, während diese Eigenschaft dem DHEA-Sulfat und -Glucuronosid fehlt (34).

Nach derartigen Erfahrungen lag es nahe, auch das eigentliche endogene Sulfokonjugat, nämlich DHEA-Sulfatid in seinem Einfluß auf besagtes Enzym zu überprüfen. Erste Ergebnisse in dieser Richtung zeigten, daß die G-6-PDH-Aktivität im menschlichen Erythrocyten durch synthetisches DHEA-Sulfatid noch bei einer 10^{-7} M Konzentration zu 19% gehemmt wird. Diese Konzentration aber entspricht nur einem Zehntel der physiologischer Plasmawerte sulfokonjugierten DHEA's. Freies DHEA bewirkt dagegen in derselben Konzentration, welche bekanntlich zehnmal höher liegt als seine physiologischen Plasmawerte, kaum eine 8%-ige Hemmung der Enzymaktivität.

Im Folgenden wurde daher die Einwirkung von DHEA und seinen Konjugaten auf die G-6-PDH-Aktivität im menschlichen Ovar und Lebergewebe untersucht.

METHODIK

Die Aufarbeitung des Lebergewebes erfolgte in Anlehnung an die von LÖHR und WALLER beschriebene Methode.

Frisches menschliches Lebergewebe, das durch Punktion gewonnen wurde, tupfte man mit Filterpapier ab und wog es genauestens. Anschließend wurde das Gewebe in 0,04 ml 0,9% Kochsalz/0,02% EDTA-Lösung pro mg bei 0° C 2 Minuten homogenisiert und das Homogenat 20 Minuten bei 15000 g und 0° C zentrifugiert. Den Überstand dekantierte man und benutzte ihn für die Enzymbestimmung.

Das Ovargewebe wurde in gleicher Weise aufgearbeitet.

Die Enzymbestimmung geschah folgendermaßen:

2,90 ml 0,05 M Triäthanolamin / 0,005 M EDTA-Puffer von pH 7,6 und 0,1 ml Leber-Enzym, 0,1 ml 0,001 M NADP-Lösung und 0,02 ml Dioxan, das verschiedene Konzentrationen von DHEA und seinen Konjugaten enthielt, wurden 5 Minuten in einem Wasserbad von 25°C inkubiert. Die endgültige Konzentration von DHEA und seinen Konjugaten entsprach einer 10^{-7} bis 10^{-5} M Lösung. Anschließend gab man 0,05 ml 0,031 M Glucose-6-Phosphat hinzu und bestimmte über 10 Minuten die Extinktion bei 366 m μ im EPPENDORF-Photometer.

Für die Bestimmung der K_i -Werte benutzte man 10^{-5} bis 10^{-3} M Konzentrationen von Glucose-6-Phosphat bei gleichbleibender NADP-Konzentration bzw. umgekehrt.

Ergebnisse

Die Abb. (IV-IX) sowie die Tab. (I und II) zeigen die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen (28, 29).

In Abb. (IV, V, VII, VIII) bzw. Tab. (I, II) ist die Hemmung der G-6-PDH durch DHEA und seine Konjugate in Prozent aufgeführt.

Tabelle I

Hemmung der G-6-PDH-Aktivität in Lebergewebe durch DHEA oder seine Konjugate

Hemmstoff	% Hemmung in einer Konzentration von		
	5×10^{-6} M	10^{-6} M	10^{-7} M
DHEA	40	15	9
DHEA-Sulfat	4	2	1
DHEA-Glukuronoside	0		
DHEA-Sulfatid	86	31	20

Tabelle II

Hemmung der G-6-PDH-Aktivität in Ovargewebe durch DHEA oder seine Sulfokonjugate.

Hemmstoff	% Hemmung in einer Konzentration von		
	10^{-5} M	10^{-6} M	10^{-7} M
DHEA	52	17	9
DHEA-Sulfat	12	6	4
DHEA-Sulfatid	84	49	22

Abb. (IV - IX) geben Auskunft über die Art der Hemmung, wobei man sich des LINEWEAVER-BURKE-Diagramms bzw. der Methode von HUNTER-DOWNS bediente (12).

Im ersten Fall werden die reziproken Werte von ΔE gegen die reziproken Werte der abnehmenden Substratkonzentrationen aufgetragen (G-6-P bzw. NADP), während man nach der Methode von HUNTER-DOWNS $i = \frac{\alpha}{1 - \alpha}$ gegen die Substratkonzentration aufträgt (i = Inhibitorkonzentration, α = Quotient von ΔE in Anwesenheit und Abwesenheit des Inhibitors).

Die für die einzelnen Steroide gefundenen Meßwerte ergeben bei der Anwendung der Methode von LINEWEAVER-BURKE

Geraden, die sich im negativen Bereich der Abszisse schneiden. Dies deutet auf den nicht-kompetitiven Charakter der Hemmung.

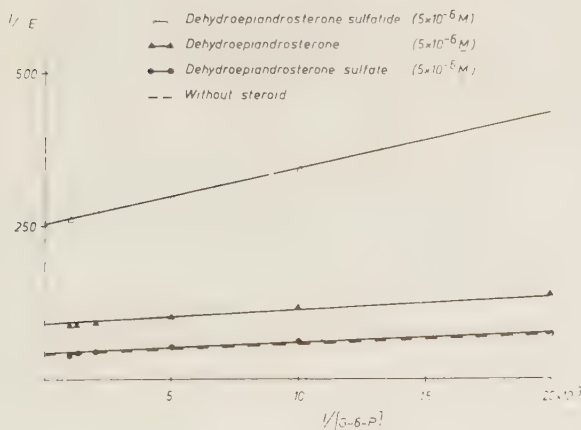


Abb. IV

Hemmung der G-6-PDH aus Lebergewebe durch DHEA oder seine Sulfokongjugate in Anwesenheit eines Überschusses von NADP und begrenzten Konzentrationen von G-6-P.

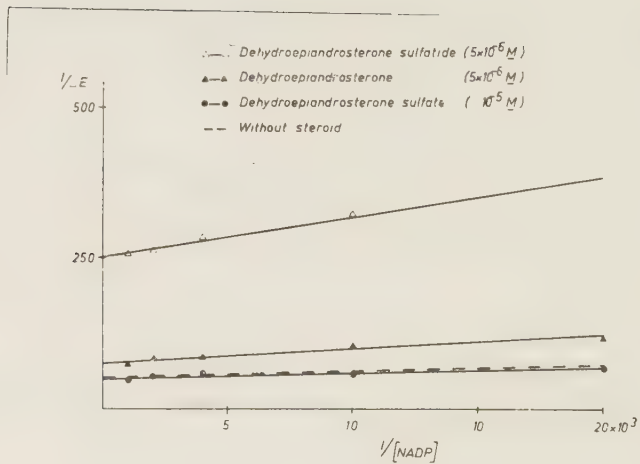


Abb. V

Hemmung der G-6-PDH aus Lebergewebe durch DHEA oder seine Sulfokonjugate in Anwesenheit eines Überschusses von G-6-P und begrenzten Konzentrationen von NADP.

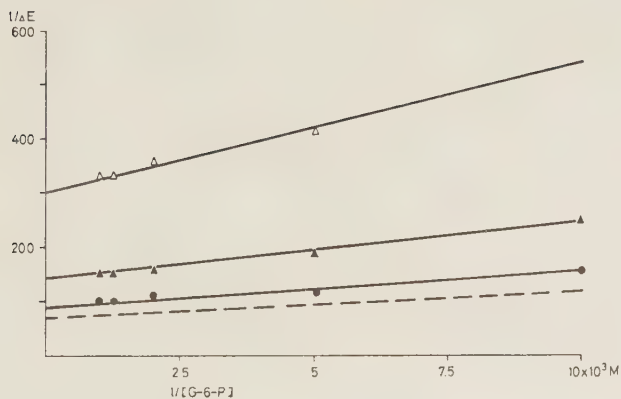


Abb. VII

Hemmung der G-6-PDH aus Ovargewebe durch DHEA oder seine Sulfokongjugate in Anwesenheit eines Überschusses von NADP und begrenzten Konzentrationen von G-6-P.

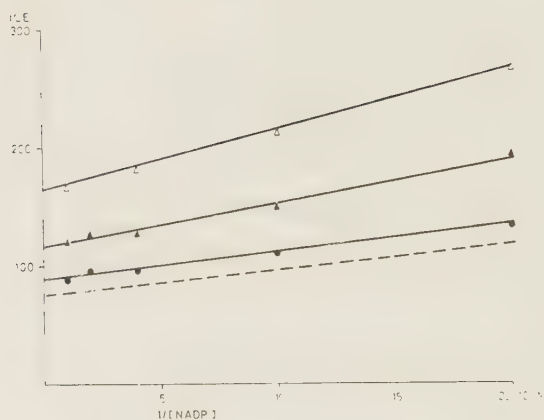


Abb. VIII

Hemmung der G-6-PDH aus Ovargewebe durch DHEA oder seine Sulfokongjugate in der Anwesenheit eines Überschusses von G-6-P und begrenzten Konzentrationen von NADP.

Im HUNTER-DOWNS-Diagramm erhielt man Parallelen zur Abszisse, die als weiterer Hinweis auf eine nicht-kompetitive Hemmung dienen. Die Schnittpunkte dieser Geraden mit der Ordinate kennzeichnen die Inhibitorkonstanten, K_i , der einzelnen Steroide bzw. Steroid-Konjugate.

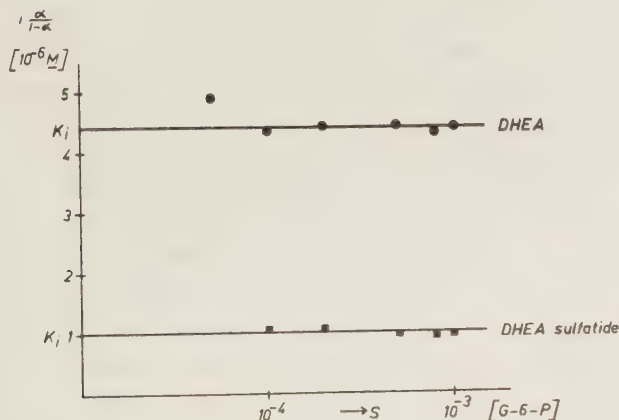


Abb. VI

Graphische Bestimmung von K_i für DHEA und synthetisches DHEA-Sulfatid in Anlehnung an die Methode von HUNTER und DOWNS, bezogen auf Lebergewebe.

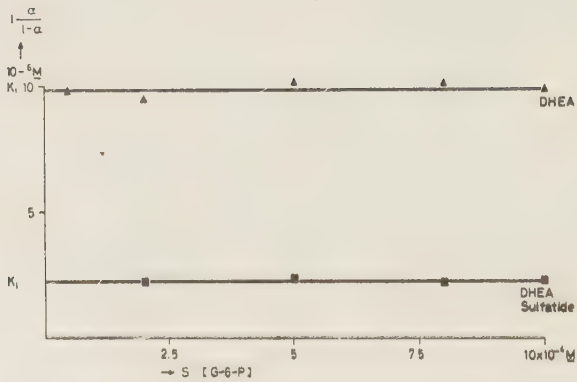


Abb. IX

Graphische Bestimmung von K_i für DHEA und synthetisches DHEA-Sulfatid in Anlehnung an die Methode von HUNTER und DOWNS, bezogen auf Ovargewebe.

DISKUSSION

Die Versuchsergebnisse zeigen, daß die Hemmung der gereinigten menschlichen Glucose-6-Phosphat Dehydrogenase nicht nur durch freies DHEA erfolgt. Vielmehr rief das synthetische DHEA-Sulfatid in einer Konzentration von 10^{-7} M noch eine 20 %-ige Hemmung hervor gegenüber einer 9 %-igen Hemmung durch freies Steroid. Diese Resultate stehen im Einklang mit anderen Untersuchungen von OERTEL und REBELEIN (26). Da sulfokonjugiertes DHEA im Körper vorwiegend als Sulfatid vorliegt und die normalen Plasmaspiegel an sulfokonjugiertem DHEA zwischen 40 und 250 $\mu\text{g}/100$ ml liegen, scheint eine Hemmung der G-6-PDH in der menschlichen Leber wie auch im Ovar unter physiologischen Bedingungen durch DHEA-Sulfatid durchaus möglich. Es läßt sich weiter folgern, daß freies DHEA nur in unphysiologischen Konzentrationen G-6-PDH hinreichend zu inhibieren vermag, da das Steroid im Plasma kaum eine Konzentration von 2 $\mu\text{g}/100$ ml erreicht.

DHEA-Sulfat übt dagegen keine hemmende Wirkung auf die G-6-PDH der Leber aus. Nur bei Versuchen mit G-6-PDH aus Ovarialgewebe trat auch bei DHEA-Sulfat eine geringe Hemmung auf, die offenbar durch Sulfataseaktivität im Ovargewebe erklärt werden kann (31). Dieses Enzym hydrolisiert das Steroid-Sulfat, so daß freies DHEA zur Wirkung kommt. Im Lebergewebe scheint eine Spaltung von DHEA-Sulfat praktisch nicht einzutreten (31).

Da nach Präinkubation der G-6-PDH mit DHEA oder seinem Sulfatid eine unterschiedliche Hemmung in Gegenwart oder Abwesenheit von NADP und/oder Glucose-6-P nicht festzustellen war, blieb die Reihenfolge der Zugabe der einzelnen Substanzen ohne belang für die Hemmung. Aus Versuchen von MARKS und BANKS (20) schloß man, daß die Hemmung des Enzyms auf einer Oxo-Gruppe in C-17 oder C-20 des Steroid-Moleküls beruht. OERTEL und Mitarbeiter vertreten jedoch die Ansicht, daß auch eine Sauerstoff-Funktion an C-3 eine Rolle spielt. Die Oxo-Gruppe an C-17 oder C-20 und eine äquatoriale 3 β -Hydroxy-Gruppe erteilen offenbar dem Steroid-Molekül eine notwendige Polarität, die für die Annäherung des Steroids an das Enzym-Molekül entscheidend ist. Hierdurch verändert sich die Konformation des Enzyms, was sich in einer Hemmung seiner Aktivität auswirkt. Die negative Ladung, wie sie in den Anionen des DHEA-Sulfats oder -Glucuronosids vorliegt, verhindert offenbar jegliche Annäherung des Steroids an das Enzym-Molekül. Eine Umwandlung des Sulfats in seinen Diglyceridester oder "Sulfatid" hebt diese negative Ladung auf und liefert den lipophilen Charakter des Steroid-Konjugats.

Nach den gegenwärtigen Ergebnissen wäre eine Kontrolle der G-6-PDH-Aktivität durch endogenes DHEA-Sulfatid unter physiologischen Bedingungen durchaus denkbar, wobei das DHEA-Sulfat nur eine Vorstufe des endogenen gebildeten Sulfatids darstellt. So zeigte sich auch in klinischen Versuchen, daß nach Gabe von täglich

20 mg DHEA-Sulfat die G-6-PDH bei normalen Personen geringfügig absank unter gleichzeitigem Anstieg des DHEA-Spiegels im Plasma.

Diese Befunde offenbarten Zusammenhänge zwischen DHEA bzw. DHEA-Sulfatid und der G-6-PDH des Menschen.

Auf die klinische Bedeutung des DHEA's wiesen schon SONKA und Mitarbeiter hin (33). Fettsucht, auf Insulin wenig ansprechender Diabetes, vorzeitige Arteriosklerose, Tendenz zu Thrombosen, Gicht und manche Form der Hypertonie sind ihrer Meinung nach Krankheitsbilder, denen als gemeinsamer pathogenetischer Faktor u.a. ein DHEA-Mangel zugrunde liegen könnte. So nimmt man u.a. an, daß z.B. Thrombosen, die eine endokrine Form der Fettsucht begleiten und arterieller oder venöser Art sein könnten, durch eine beschleunigte Thromboplastinsynthese ausgelöst werden. In den Thrombocyten ließ sich ein überaus aktiver Pentosephosphat-Cyklus nachweisen. So steigt bei Streßzuständen, die ja bekanntlich eine Aktivierung des Pentosephosphat-Cyklus hervorrufen, auch die Blutgerinnung, was als Bestätigung der vorliegenden Annahme gelten mag. Nach SONKA und GREGOROVA kommt es seitens der Nebenniere unter Einfluß von ACTH zur Sekretion von DHEA, und nach OERTEL auch des DHEA-Sulfatids (27), was sodann eine Inhibition der G-6-PDH nach sich zieht. Zugleich aber wird die Synthese von Cholesterin und seine Umwandlung zu anderen Steroiden und damit letztlich auch die Bildung von DHEA unterdrückt. Man könnte somit auch von einer Form der Rückkopplungs-Hemmung sprechen.

VRBROVA und andere stellten fest (33), daß dieser Mechanismus bei Personen mit einer erhöhten Reaktivität

der MNR versagen kann, da bei diesen Personen nach Applikation von ACTH ein sofortiger Anstieg der DHEA-Sekretion sowie anderer 17-Ketosteroide eintritt. Das ausgeschiedene DHEA sinkt jedoch nach einigen Tagen unter normale Werte ab, während andere Fraktionen der 17-Ketosteroide erhöhte Werte erreichen. SONKA beschreibt ferner (33), daß bei DHEA-Mangel eine Störung der Biosynthese der Steroide zu erwarten sei, da DHEA als Prekursor weiterer Steroide, insbesondere der Androgene und Östrogene gilt. Durch den aktivierenden Einfluß auf die Hydroxylierung könnte die Interkonversion einiger Steroide beschleunigt werden, was unter Umständen zu einer Verschiebung des Quotienten Androgene/Östrogene führt. Dieses würde auch zu den Stoffwechselanomalien bei manchen Fettsüchtigen passen. In dieser Hinsicht seien verschiedene Störungen bei Adipositas erwähnt, die sich mit nachstehenden Steroiden in Zusammenhang bringen lassen.

So behaupten manche Autoren, daß bei Fettsüchtigen eine Stimulation der MNR nachweisbar ist, was zumeist durch unterschwellige Stresswirkungen erklärt wird. Letztere gehen nach Meinung mancher Autoren auf mechanische Belastung, nach anderen Meinungen auf Hyperinsulinismus oder Diabetes zurück.(33).

Die ungebremste Anhäufung von NADPH für verschiedene Enzyme in der MNR, z.B. für Hydroxylasen, kann eine andauernde Stimulation der Glucocorticoidsekretion verursachen.

Fettsucht ist weiter oft mit einer Hypo- bis Amenorrhoe

und mit Sterilität verbunden. Nach einer Gewichtsnormalisierung regelt sich die Menstruation oft spontan. Was die Androgene bei Fettsucht betrifft, so soll hier das FRÖHLICH-Syndrom und der Hypogonadismus bei stark fettsüchtigen Männern erwähnt werden.

Nach dem bisher Gesagten wurden bei DHEA-Mangel eine beschleunigte Liposynthese und Fettsucht sowie eine Störung der Biosynthese von Steroiden festgestellt. Bei einer Überproduktion von NADPH durch Mangel an DHEA wäre jedoch auch eine verstärkte Reduktion der Folsäure und eine Stimulierung der Biosynthese von Purin- und Pyrimidinbasen zu erwarten. Schließlich wird eine Aktivierung des Pentosephosphat-Cyklus ja auch bei physiologischem wie pathologischem Wachstum beobachtet.

Jede Aktivierung des Pentosephosphat-Cyklus stimuliert somit die Synthese der Purine.

Bei Gicht wurde tatsächlich die beschleunigte Inkorporation von C-1-Bruchstücken in den Kern der Purine nachgewiesen. Die Purine sind hier nicht in größere Moleküle eingebaut, sondern werden bevorzugt bis zur Harnsäure katabolisiert. Letztere Verbindung ist schwer löslich und wird leicht im Gewebe abgelagert. Man könnte also annehmen, daß ein Mangel an DHEA mit der folgenden Aktivierung des Pentosephosphat-Cyklus den ätiologischen Faktor der Gicht darstellt. Bei 27 unter Gicht leidenden Patienten fand SONKA und Mitarbeiter praktisch kein DHEA im Harn (33).

Ein Mangel an DHEA sollte ferner den Überlegungen dieser Autoren zufolge durch Reduktion der Disulfidbrücken die Inaktivierung des Insulins zur Folge haben. Diese Inaktivierung aber würde eine Hyperglykämie durch beeinträchtigte Glucoseutilisation im peripheren Gewebe nach sich ziehen und letztlich eine erhöhte Insulinsekretion bewirken. Letztere läßt sich in solchen Fällen anhand der Hyperplasie des Inselapparates und der Feststellung erhöhter Insulinspiegel im Plasma nachweisen (33). Bei Personen mit DHEA-Mangel findet man im späteren Alter tatsächlich eine verringerte Glucoseutilisation. Derartige Diabetiker reagieren nur in geringem Maße auf Insulin, da es zur Inaktivierung des endogenen wie exogenen Insulins durch den gleichen Mechanismus kommt, nämlich die Spaltung der Disulfid-Gruppen.

Eine herabgesetzte Empfindlichkeit gegenüber Insulin wird hier nicht durch die Gegenwart eines Insulin-antagonisten hervorgerufen, sondern beruht eher auf einer Inaktivierung des Hormons unter Einfluß des gesteigerten Pentosephosphat-Cyklus im Gewebe des Patienten.

Nach den vielfältigen klinischen Erörterungen erhebt sich zum Schluß die Frage nach den Ursachen für den DHEA-Mangel. Hier könnte einmal eine Störung der Synthese vorliegen, oder aber ein beschleunigter Stoffwechsel des DHEA's zu anderen Steroiden. Des weiteren wären renale Störungen zu erwägen, die eine beschleunigte Ausscheidung des DHEA's bzw. seiner Kon-

jugate hervorrufen. Insgesamt gesehen mag die Hemmung der G-6-PDH mit ihren Folgen als eine wesentliche Aufgabe des im Organismus als Sulfatid vorliegenden DHEA's angesehen werden.

ZUSAMMENFASSUNG

In dieser Arbeit haben wir aufgrund unserer Versuchsergebnisse bewiesen, daß das synthetische DHEA-Sulfatid in einer Konzentration von 10^{-7} M noch eine 20 %-ige Hemmung der gereinigten menschlichen G-6-PDH der Leber hervorruft gegenüber einer 9 %-igen Hemmung durch freies DHEA. DHEA-Sulfat übte dagegen keine hemmende Wirkung auf die G-6-PDH der Leber aus. Bei gleichen Versuchen mit G-6-PDH aus Ovarialgewebe trat jedoch eine geringe Hemmung durch DHEA-Sulfat zutage, die durch Sulfataseaktivität im Ovarialgewebe erklärt werden kann.

Bei Anwendung der Methode von LINEWEAVER-BURKE ergeben die für die einzelnen Steroide gefundenen Meßwerte Geraden, die sich im negativen Bereich der Abszisse schneiden, was auf den nicht-kompetitiven Charakter der Hemmung hinweist.

Auch die Parallelen, die im HUNTER-DOWNS-Diagramm zur Abszisse erhalten wurden, bestätigten die nicht-kompetitive Hemmung.

Nach den gegenwärtigen Ergebnissen erscheint es durchaus möglich, daß unter physiologischen Bedingungen die Glucose-6-Phosphatdehydrogenase durch endogenes DHEA-Sulfatid kontrolliert wird, wobei das DHEA-Sulfat nur eine Vorstufe des endogenen DHEA-Sulfatids darstellt.

MATERIAL

Die für die Versuche notwendigen Substanzen, wie G-6-P, NADP, Triäthanolamin-EDTA-Puffer und EDTA lieferte die Firma C.F.BOEHRINGER und Söhne GmbH, Mannheim.

DHEA-Sulfat wurde von der Firma MANN-Research LABORATORIES, Inc., NEW YORK, N.Y., USA, bezogen.

DHEA-Sulfatid wurde nach der Methode von OERTEL synthetisch hergestellt.

Alle Konzentrationsangaben von Inhibitoren beziehen sich auf das Endvolumen von 3,22 ml.

LITERATURVERZEICHNIS

1. BAULIEU, E.E., DRAY, F.
Conversion of 3-H DHEA-sulfate
to 3-H oestrogenes in normal
pregnant women.
J.clin.Endocrin.Metab. 23 (1963)
1298
2. BAULIEU, E.E., EMILOZZI, R., CORPECHET, C.
Isolement dans le plasma veineux
périphérique et surrénalien de
l'ester-sulfate de 5-androstène
3 β -O1 7,17-dione.
Experientia (Basel) 17 (1961), 110
3. BAULIEU, E.E., Three Sulfate-Esters of 17-Keto-
steroids in the Plasma of Normal
Subjects and after Administration
of ACTH.
J.clin.Endocrin., 20 (1960), 900-904
4. BÜCHER, T., Klingenberg, M.
Wege des Wasserstoffs in der lebendigen
Organisation.
Angew.Chemie, 70 (1958), 552-570
5. BUTENANDT, A., und TSCHERNING, K.
Über Androsteron, ein krystallisiertes männliches Sexualhormon. I.
Isolierung und Reindarstellung aus
Männerharn (Göttingen)
Hoppe-Seyler's Z. physiol.Chemie 229
(1934), 167-184
6. CALVIN, H., VAN DE WIELE, R., LIEBERMANN, S.
In vivo conversion of pregnenolone
sulfate S-35 to DHEA sulfate S-35.
Biochem. 2 (1963), 648

7. DELBRÜCK, A., SCHIMASSEK, H., BARTSCH, K., BÜCHER, T.

Enzym-Verteilungsmuster in einigen
Organen und in experimentellen Tu-
moren der Ratte und der Maus.
Biochem.Z. 331 (1959), 297-311

8. EIK-NES, K.B., OERTEL, G.W., NIMER, R., TYLER, F.H.

Effect of human chorionic gonado-
tropin on plasma concentration of
17-hydroxycorticosteroids, DHEA and
Androsterone in man.
J.clin.Endocrin.Metab. 19 (1959)
1405

9. GLOCK, G.E., MC LEAN, P.

Levels of Enzymes of the Direct
Oxydative Pathway of Carbohydrate
Metabolism in the Mammary Gland of
the Rat.
Biochem.biophysica Acta 12 (1953),
590

10. GLOCK, G.E., MC LEAN, P.

Levels of Enzymes of the Direct
Oxydative Pathway of Carbohydrate
Metabolism in Mammalian Tissues and
Tumors.
The Biochemical Journal 56 (1954),
171-175

11. HOHORST, H.J. in H. WILMANN:

Chemotherapie der Tumoren
Schattauer Verlag, Stuttgart (1960)

12. HUNTER, A., DOWNS, C.E.

The inhibition of arginase by
amino acids.
J.biol.Chem. 157 (1945), 427

13. KARLSON

Kurzes Lehrbuch der Biochemie
(1966), 238

14. KARLSON Kurzes Lehrbuch der Biochemie
 (1966), 237-240
15. LÖHR, G.W., WALLER, H.D.
 Hämolytische Erythropathie durch
 Fehlen der G-6-PDH in roten Blut-
 zellen als dominant vererbliche Krank-
 heit.
 Klin.Wschr.36 (1958), 865-869
16. LÖHR, G.W., WALLER, H.D.
 Originalien
 Zellstoffwechsel und Zellalterung.
 Klin.Wschr.37 (1959), 833-843
17. LÖHR, G.W., WALLER, H.D., BOCK, H.E.
 CLXII Enzymverteilungsmuster in
 normalen und pathologischen weißen
 Blutzellen des Menschen.
 Verh.dtsch.Ges.inn.Med.
 66 (1960), 1045-1050
18. LÖHR, G.W., WALLER, H.D.
 Biochemie und Pathogenes der enzy-
 mopenischen hämolytischen Anämien.
 Deutsche Med.Wochenschrift 2 (1961),
 87-93
19. LÖHR, G.W., WALLER, H.D.
 Glukose-6-Phosphat Dehydrogenase
 Methoden der Enzymatischen Analyse
 H.U. Bergmeyer (Ed.), Weinheim, 1962
 p. 744
20. MARKS, P.A., BANKS, J.
 Inhibition of Mammalian G-6-PDH
 by Steroids
 Proc.Nat.Acad.sci., 46 (1960)
 442-452

21. MC DONALD, P.C., VAN DE WIELE, R., LIEBERMANN, S.

Precursors of the urinary 11-des-oxy-17-ketosteroids: Influence of the level of secretion of Dehydroisoandrosterone upon its metabolites.
J.clin.Endocr., 22 (1962), 1222-1228

22. MC DONALD, P.C., VAN DE WIELE, R., LIEBERMANN, S.

Influence of daily variation in the metabolism of Dehydroisoandrosterone upon the determination of its secretory rate.
J.clin.Endocr., 22 (1962), 1229-1233

23. NEMELEIN, E., GERISCHER, W.

Verbesserte Methode zur Gewinnung des Zwischenferments aus Hefe.
Biochem.Z., 284 (1936), 289-296

24. OERTEL, G.W., GROOT, K.

Über Steroid-Konjugate im Plasma, XV
In-vivo-Biogenese von C₁₉-Steroid Sulfatiden.
Hoppe-Seyler's Z.physiol-Chem. 341 (1965), 204-214

25. OERTEL, G.W., Über Steroid-Konjugate im Plasma (XVII)

Isolierung und Charakterisierung lipophiler Steroid-Konjugate aus Nebennierenrindengewebe, Plasma und Liquor.
Hoppe-Seyler's Z. physiol.Chem. 343 (1966), 276-281

26. OERTEL, G.W., MENZEL, P., REBELEIN, I.

Effects of dehydroepiandrosterone and its conjugates upon the activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase in human erythrocytes.
Biochem.,Biophys.Acta, 184 (1969), 459-460

27. OERTEL, G.W., KAISER, E., ZIMMERMANN, W.
Über Steroid-Konjugate in Plasma,
(IX)
Bestimmung freier und konjugierter
Steroide in Nebennierenvenenblut
und peripherem Blut.
Hoppe-Seyler's Z.physiol.-Chem. 331
(1963), 77-84
28. OERTEL, G.W. Über Steroid-Konjugate in Plasma
(II)
Synthese von Sulfatidyldehydroepi-
androsteron.
Naturwissenschaften 48:621 (1961)
29. OERTEL, G.W., MENZEL, P., BAUKE, D.
Effects of Dehydroepiandrosterone
and its conjugates upon the activity
of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase.
Clin.Chim.Acta, 27 (1970), 197-201
30. OERTEL, G.W. Effects of Dehydroepiandrosterone
and its Conjugates upon the Activity
of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase.
III. Inhibition of Glucose-6-Phosphate
Dehydrogenase in Human Ovarian Tissue.
Steroidologia 1:2-7 (1970)
31. O'MALLEY, B.W.O., LIPSETT, M.B., JACKSON, M.A.
Steroid Content and Synthesis in a
Virilizing Luteoma.
J.clin.Endocr. 27 (1967) 311-319
32. Schmidt, E., SCHMIDT, F.W.
Enzymmuster menschlicher Gewebe.
Klin.Wschr. 38 (1960), 957-962
33. SONKA, J., GREGOROVA, I., JIRANEK, M., KÜLBEL, G.,
MATYS, Z.
Defekt des Dehydroepiandrosteron
- ein neues Syndrom ?
Endocrinologie 47 (1965), 152-161

34. TSUTSUI, E.A., MARKS, P.A., REICH, P.

Effects of the Dehydroepiandrosterone on Glucose-6-phosphate Dehydrogenase Activity and reduced Triphosphopyridine Nucleotide Formation in Adrenal Tissue.

J.Biol.Chem. 237 : 3009 (1962)

35. VAN DE WIELE, R., MC DONALD, P.C., LIEBERMANN, S., BOLTE, E.

Precursors of the urinary 11-desoxy-17-ketosteroids:

Estimation of the secretory rate of Dehydroisoandrosterone.

J.clin.Endocr., 22 (1962), 1207-1221

36. WALLER, H.D., LÖHR, G.W., TABATABAI, M.

Hämolyse und Fehlen von Glukose-6-Phosphatdehydrogenase in roten Blutzellen (eine Fermentanomalie der Erythrocyten).

Klin.Wschr. 35 (1957), 1022-1027

37. WARBURG, O., CHRISTIAN, W.

Über Aktivierung der Robisonschen Hexose. Mono- und Phosphorsäure in roten Blutzellen und die Gewinnung aktivierender Fermentlösungen.

Biochem. Z. 242 (1931), 206

38. WARBURG, O., CHRISTIAN, W.

Über ein neues Oxydationsferment und sein Absorptionsspektrum.

Biochem.Z. 254 (1932), 438-458

39. WARBURG, O., CHRISTIAN, W., GRIESE, A.

Wasserstoffübertragendes ^{Co}Ferment, seine Zusammensetzung und Wirkungsweise.

Biochem.Z. 282 (1935), 157-205

Lebenslauf

Am 3. September 1944 wurde ich, Viola-Dagmar Bauke, als dritte Tochter des Lungenfacharztes Dr. med. Willy Bauke und seiner Ehefrau Friedel Bauke, geb. Grunitz, in Bad Reinerz in Schlesien geboren. Ich bin evangelisch-protestantischer Konfession und besitze die deutsche Staatsangehörigkeit.

Im Frühjahr 1951 wurde ich in die Kahlhorst-Volksschule in Lübeck eingeschult und besuchte vier Jahre später nach einer Aufnahmeprüfung die Lübecker Oberschule am Falkenplatz. Von 1956 bis 1965 war ich Schülerin des Katharineums in Lübeck und bestand dort am 9. März 1965 das Abitur.

Zum Sommersemester 1965 bekam ich von der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz die Zulassung zum Medizinstudium. Dort bestand ich im Frühjahr 1966 das Vorphysikum und am 20. März 1968 das Physikum. Zum Sommersemester 1969 ging ich an die "Medizinische Akademie Lübeck", wo ich im Sommer 1971 die ärztliche Prüfung ablegte.

Am 27. 8. 1971 heiratete ich den praktischen Arzt Dr. Jens Hinzpeter.

Herrn Professor Oertel danke ich verbindlichst für die Überlassung des Themas sowie für wertvolle Anregung und Hilfe, die er mir bei meiner Arbeit gewährt hat. Weiterhin danke ich Herrn Dr. Menzel und Fräulein Brigitte Hüllen für die hervorragende Hilfe und Unterstützung.

